

OTOTOXICIDADE, OTOPROTEÇÃO E AUTODEFESA DAS CÉLULAS CILIADAS DA CÓCLEA

OTOTOXICITY, OTOPROTECTION AND SELF DEFENSE OF THE COCLEAR OUTER HAIR CELLS

Miguel A. Hyppolito, José Antonio A. de Oliveira

Docentes. Divisão de Otorrinolaringologia. Departamento de Oftalmologia, Otorrinolaringologia e Cirurgia de Cabeça e Pescoço - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP

CORRESPONDÊNCIA: Miguel Angelo Hyppolito. Divisão de Otorrinolaringologia do Departamento de Oftalmologia, Otorrinolaringologia e Cirurgia de Cabeça e Pescoço da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. Universidade de São Paulo.

Avenida Monte Alegre, 3900. Ribeirão Preto – SP – Brasil. CEP: 14049-900; E-mail: mhyppolito@uol.com.br ou mahyppo@fmrp.usp.br

Hyppolito MA, Oliveira JAA. Ototoxicidade, otoproteção e autodefesa das células ciliadas da cóclea. Medicina (Ribeirão Preto) 2005; 38 (3/4): 279-289.

RESUMO: Ototoxicoses são afecções provocadas por drogas medicamentosas de forma iatrogênica, comprometendo a função auditiva e/ou do sistema vestibular periférico. São caracterizadas por uma perda auditiva neurosensorial de mais de 25 dB em uma ou mais frequências na faixa de 250 a 8000 Hz, com ou sem manifestações de vertigem ou desequilíbrio.

Dentre as drogas ototóxicas as mais estudadas são os antibióticos aminoglicosídeos e antineoplásicos como a cisplatina que é largamente utilizada para o tratamento do câncer, tanto em adultos quanto em crianças. Estudos têm tentado identificar drogas que, associadas aos ototóxicos possam atuar como otoprotetores. Sabe-se que o mecanismo da ototoxicidade de aminoglicosídeos e da cisplatina está relacionado a alterações nos mecanismos antioxidantes das células ciliadas, principalmente as células ciliadas externas da cóclea. Além disso, existem relatos do fenômeno de autodefesa das células ciliadas externas a aminoglicosídeos e a cisplatina.

Descritores: Ototoxicidade. Aminoglicosídeos. Cisplatina. Otologia. Toxicidade de Drogas.

1- INTRODUÇÃO

Ototoxicoses são afecções provocadas por drogas medicamentosas de forma iatrogênica, comprometendo a função auditiva e/ou do sistema vestibular periférico. São caracterizadas quando ocorrer uma perda auditiva neurosensorial de mais de 25 dB em uma ou mais frequências na faixa de 250 a 8000 Hz, com ou sem manifestações de vertigem ou desequilíbrio. (Figura 1)

A incidência de ototoxicidade é variável, para a gentamicina, varia de 6% a 16%; Tobramicina, 6,1%;

Amicacina 13,9%; Netilmicina 2,5%; existindo relato de até 80% para a Kanamicina.

Outro aspecto importante é a reversibilidade da ototoxicidade que segundo estudo de Matz em 1993, houve uma reversibilidade da ototoxicidade da gentamicina em 50%, com tempo de recuperação variando de 1 semana a 6 meses, após cessar o seu uso¹.

Diferentes substâncias podem causar perda auditiva por lesão coclear, podendo-se destacar: antineoplásicos, antibióticos, diuréticos, antiinflamatórios não esteroidais, antihipertensivos, desinfetantes. (Tabela I)

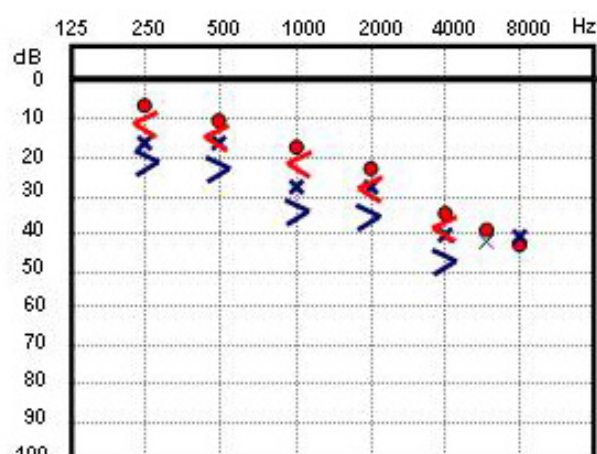


Figura 1: Exemplo de audiograma mostrando uma provável perda auditiva neurossensorial a partir de 1000 Hz, em paciente em uso de droga potencialmente ototóxica atendido no Ambulatório de Otorrinolaringologia do HCRP-FMRP-USP.

2- DROGAS OTOTÓXICAS

Dentre as drogas mais estudadas, dois grupos têm destaque, por sua utilização difundida na prática clínica que são os antibióticos aminoglicosídeos e os antineoplásicos, sendo seus representantes a gentamicina e a cisplatina, respectivamente.

A cisplatina é uma potente droga antineoplásica utilizada em larga escala tanto em adultos quanto em crianças na terapia do câncer avançado. Muitos de seus efeitos colaterais são irreversíveis e podem ser monitorados clinicamente, mas freqüentemente não podem ser evitados.

A toxicidade da cisplatina tem sido verificada tanto em nível renal, como do sistema nervoso central ou periférico, toxicidade gastrointestinal e da medula óssea e, assim como outras classes de medicamentos causa lesões cocleares no nível do órgão de Corti.

Tabela I: Drogas potencialmente cócleo e/ou vestibulotóxicas

DROGAS OTOTÓXICAS			
CISPLATINA	MELFALAN	ERITROMICINA	VIOMICINA
CARBOPLATINA	MITOMICINA	CLORANFENICOL	CAPRIOMICINA
CARMUSTINA	MECLORETAMINA	AMPICILINA	POLIMIXINA A E B
CICLOFOSFAMIDA	PACLITAXEL	MINOCILINA	COLISTINA
DOXORUBICINA	FLUORURACIL	CEFALOSPORINAS	ACTINOMICINA
	ESTREPTOMICINA	AC. NALIDÍXICO	FRAMICITINA
	DIIDROESTREPTOMICINA	VANCOMICINA	LINCOMICINA
GENTAMICINA	NE TILMICINA	ÁCIDO ETACRÍNICO	
AMICACINA	AMINOSIDINA	FUROSEMIDA	
NEOMICINA	PARAMOMICINA	BUMETANIDA	
	SALICILATO DE SÓDIO	PIRETAMINA	
	QUININO	INDAPAMIDA	
PRACLOLOL	IBUPROFENO	CLORHEXEDINA	
PROPANOLOL	MONOFENILBUTAZONA	BENZETÔNIO	
	INDOMETACINA	BENZALCÔNIO	
		IODO / IODINE / IODOPHORM	
		ETANOL	
		PROPILENOGLICOL	

Estudos anatômicos demonstram que a cisplatina provoca danos tanto com doses agudas elevadas como com doses cumulativas, principalmente com o comprometimento de células ciliadas externas, havendo lesão inicial nas células da espira basal da cóclea. Alguns autores sugerem a ocorrência de um bloqueio na transdução dos canais de cálcio destas células, outros estudos mostram lesões às células ciliadas internas, às células suportes e “stria vascularis”, bem como o gânglio espiral.

A cisplatina causa uma perda auditiva bilateral e irreversível em humanos, com zumbido associado e comprometendo às altas frequências (4.000 Hz a 8.000 Hz).

Os exames para diagnosticar e prevenir os efeitos ototóxicos destas drogas têm sido a audiometria tonal liminar, Potencial Auditivo Evocado de Tronco Cerebral (PAETC), potencial endococlear e as emissões otoacústicas, que medem o estado funcional das células ciliadas externas como um método de avaliação simples e rápido, colaborando na monitorização de pacientes submetidos a drogas consideradas ototóxicas.

Estudos têm demonstrado um possível mecanismo de alteração do sistema antioxidante celular para a ototoxicidade e nefrotoxicidade geradas pela cisplatina e gentamicina, pois as vias de detoxicação nos dois tecidos são semelhantes. Os níveis de glutathione e a atividade de enzimas antioxidantes como superóxido dismutase, catalase, GSH peroxidase e GSH redutase estão reduzidas nestes tecidos, levando a peroxidação lipídica, instalando assim, a toxicidade celular.

Numa fase aguda, a droga ototóxica se combinaria a receptores de membrana das células ciliadas cocleares ou das máculas do sáculo, utrículo ou cristas ampulares dos canais semicirculares. Esses receptores compostos de polifosfoinosítídeos têm papel importante nos mecanismos bioelétricos e na permeabilidade da membrana celular, por interação com íons cálcio. O aminoglicosídeo, por exemplo, leva a um bloqueio dos canais de cálcio e conseqüentemente aos canais de potássio (cálcio dependentes) e perda de íons magnésio nas mitocôndrias das células ciliadas. Numa fase crônica ocorrerão alterações no nível de RNA e DNA e na síntese protéica, desencadeados pelas alterações nos sistemas antioxidantes celulares.

Sendo as alterações cocleares irreversíveis e tendo como seqüelas as perdas auditivas neurosensoriais, a forma de impedi-las seria a prevenção. Em um paciente onde há necessidade de se utilizar uma

droga sabidamente ototóxica, deve-se avaliar previamente sua audição com audiometria tonal liminar e/ou emissões otoacústicas, monitorando com exames regulares até o término do tratamento.

Fatores de risco que devem ser evitados

- Exposição a ruídos intensos;
- Associação de drogas, como por exemplo, uso concomitante de diuréticos;
- Perdas auditivas prévias;
- Problemas hepáticos ou renais;
- Administração em crianças e recém-nascidos e pacientes em idade avançada;
- Gravidez.

Medidas preventivas

- Administrar a droga ototóxica em doses e vias adequadas;
- Escolher a droga menos tóxica;
- Administrar a dose mais baixa por um período mais curto, se possível.

Pesquisas que se estendem do final da década de 80 até o presente têm se dedicado à compreensão dos mecanismos de ototoxicidade e da utilização de drogas que atuam como otoprotetoras às células ciliadas.

2.1- Mecanismos da ototoxicidade da cisplatina

Quanto aos mecanismos de ototoxicidade da cisplatina, pouco é conhecido, desde os estudos iniciais de Harder e Rosenberg (1970)², onde o íon cloreto do meio intracelular favoreceria a reação da platina ao DNA celular.

Barron e Daigneault (1987)³, mostraram que no nível celular, na cóclea, não ocorrem alterações na bomba de sódio - potássio, não observando alterações na atividade da Na⁺-K⁺-ATPase, após a administração de cisplatina, como ocorre em nível renal.

Estudos avaliando a depleção do glutathione (GSH) renal, mostraram a possibilidade da formação de espécies de oxigênio reativo, sendo este o primeiro fator que permite a peroxidação lipídica, levando a lesão celular. Estudos com outras drogas ototóxicas como os aminoglicosídeos, também têm mostrado o envolvimento da via do glutathione (GSH) coclear, em cuja depleção consiste o mecanismo desencadeante para lesões por radicais livres.

Mc Alpine e Johnstone (1990)⁴, mostraram em estudos fisiológicos, com técnicas de iontoforese, que

a perda auditiva causada pela cisplatina, estava relacionada a um bloqueio nos canais iônicos das células ciliadas externas, bloqueando assim, a transdução do estímulo, mas não explicam exatamente como tal bloqueio ocorreria. Mostraram que durante a administração de cisplatina, não ocorreu alteração no potencial endococlear da cóclea, medido na escala timpânica, havendo no entanto, perda auditiva, concluindo então que a *stria vascularis*, não é o sítio primário de ototoxicidade da cisplatina. (Figura 2)

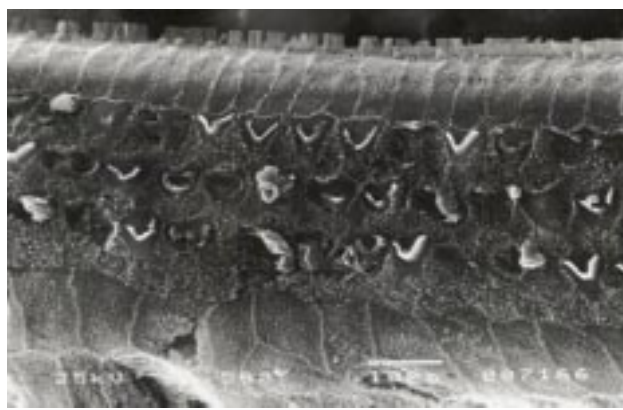


Figura 2: Microscopia eletrônica de superfície da cóclea de cobaia tratada com cisplatina 8,0 mg/ Kg/ dia 03 dias consecutivos. Alteração nas células ciliadas externas, 3 fileiras de cílios com desarranjo dos cílios remanescentes e distorção ciliar nas células ciliadas internas (espira basal) (aumento 1.500 x).

Os mesmos autores observaram que existe uma alteração na resposta da relação 2f1 - f2 nos produtos de distorção das emissões otoacústicas, após a administração de cisplatina, o que implica na lesão das células ciliadas externas, em particular no processo mecânico ativo de contração rápida destas células, o que implicaria em: primeiro, alteração na rigidez do estereocílio; segundo, redução no movimento do estereocílio pela própria alteração no processo de transdução mecano elétrica e terceiro, o processo poderia estar afetado de alguma outra maneira, como por exemplo, o fechamento dos canais iônicos no ápice da célula ciliada.

Ravi, Somani e Rybak (1995)⁵, propõem um mecanismo que explica a ototoxicidade pela cisplatina, utilizando como modelo experimental ratos, verificou uma redução no glutathione (GSH) coclear (47% do controle), não detectando o glutathione oxidado (GSSG), podendo isto ocorrer pela formação de complexo GSH- platina, havendo em seguida sua metabolização

e excreção. A depleção do Glutathione deve ser o passo determinante do “stress oxidativo” da célula que subsequentemente leva a citotoxicidade. Tal processo também foi observado no rim de ratos tratados com cisplatina.

Observaram também uma redução na atividade da GSH-peroxidase (70% do controle), que foi explicado por: primeiro, ligação direta da cisplatina aos grupos sulfidril da GSH-peroxidase, inativando-a; segundo, aumento de peróxidos orgânicos; terceiro, diminuição nos níveis da enzima, devido a um aumento na degradação da enzima combinada com a platina e quarto, depleção do glutathione.

Com relação à atividade da superóxido-dismutase (SOD) observaram um aumento de 141% do controle e da catalase 138% do controle, o que aumentaria a geração de espécies de oxigênio reativo na cóclea. Os íons superóxido devem levar a alterações na transdução acústica por influenciar na motilidade das células ciliadas externas da cóclea, o que ocorreria por um aumento no influxo de íon cálcio (Ca^{++}).

O que se considera atualmente é o mecanismo de ototoxicidade da cisplatina por alterações no sistema antioxidante das células ciliadas externas da cóclea. Assim, diferentes drogas antioxidantes foram testadas ao longo das duas últimas décadas. Tal estudo reuniu os autores que apresentam o maior número de citações bibliográficas na literatura médica, expondo o que existe de consenso sobre o uso de drogas que protegem as células ciliadas dos efeitos ototóxicos da cisplatina.

3- DROGAS OTOPROTETORAS

3.1- Mecanismo de ação

Smootenburg et al. (1999)⁶, sugere que os otoprotetores à cisplatina devem atuar seguindo os seguintes mecanismos: primeiro, interação direta com a cisplatina (tiois); segundo, deslocamento da platina de seu sítio tóxico; terceiro, prevenir que a platina interaja com a enzima superóxido-dismutase e quarto, impedir a formação de radicais livres intracelulares. As drogas classificadas nos itens primeiro e segundo, devem ser estudadas com cautela, pois estas podem reduzir a potência da atividade antineoplásica da cisplatina.

Radicais livres e espécies reativas de oxigênio são produzidos continuamente no organismo tanto em situações de saúde como de doença. São importantes como mecanismos reguladores celulares, como

“sinalizadores” intracelulares ou atuam como bactericidas. Sua produção depende de um estado de equilíbrio entre produção e remoção do oxigênio reativo e de nitrogênio, sendo este controle dependente de fatores intracelulares como as enzimas superóxido dismutase e glutathione peroxidase e compostos de baixo peso molecular como a vitamina E e ácido ascórbico. Certas drogas podem induzir “stress oxidativo” intracelular pela interação da droga com radicais intracelulares que podem comprometer as defesas antioxidantes da célula ou reagir diretamente com biomoléculas, levando a um comprometimento dos mecanismos de reparo do DNA, produção de proteínas e dos fosfolípidos de membrana, participando assim da etiopatogenia de certas doenças e de efeitos colaterais de determinadas drogas. As evidências são fortes de que os radicais livres participam do mecanismo ototóxico de drogas como os aminoglicosídeos e a cisplatina, o que não está bem estabelecido é se os achados são a causa ou a consequência da lesão às células ciliadas externas da cóclea.

Huang, *et al* (2000)⁷, mostraram que a lesão coclear induzida pela cisplatina leva a apoptose das células ciliadas externas, submetidas a um “stress oxidativo” e que a cisplatina leva a formação de espécies de oxigênio reativo e de radicais livres intracelulares, os quais interagem com os fosfolípidos de membrana das células ciliadas externas, levando a peroxidação aldeído lipídica e que um destes aldeídos é o 4-hidroxinonenal, que é um mediador conhecido da apoptose celular para neurônios auditivos e células ciliadas. Portanto, propõem que para a otoproteção deve ocorrer: primeiro, a prevenção da formação de oxigênio reativo; ou segundo, uma neutralização dos produtos tóxicos da peroxidação aldeído lipídica; ou terceiro, um bloqueio aos danos às células sensoriais que levam a apoptose.

3.2- Tipos de drogas otoprotetoras

Dentre todas as drogas testadas até o momento, as maiores evidências de otoproteção são de substâncias designadas como tiois (compostos sulfurados), quelantes de metais que atuam como carreadores de radicais livres intracelulares. O estudo conclui que as maiores evidências de ação efetiva são o tiosulfato de sódio e a D-metionina.

No entanto, os estudos clínicos são restritos, por não se saber exatamente qual a interação de tais agentes com a cisplatina e permanecer a dúvida se a formação de radicais livres intracelulares seria o principal mecanismo de lesão ototóxica da cisplatina.

3.2.1- Fosfomicina e tiosulfato de sódio

Desde a década de 80 tem-se estudado o uso de substâncias que possam servir como otoprotetoras aos efeitos ototóxicos da cisplatina.

Schweitzer, *et al* (1986)⁸, utilizaram a fosfomicina, um antibiótico derivado do ácido fosfônico, que já havia sido testado para a otoproteção a antibióticos aminoglicosídeos, mostrando que houve uma certa proteção que é dose dependente ou dose limitante aos efeitos ototóxicos e nefrotóxicos da cisplatina.

Elferink, *et al* (1986)⁹, demonstrou que o tiosulfato de sódio liga-se irreversivelmente com a cisplatina para formar $Pt(S_2O_3)_4$ e deve ser administrado logo após a infusão da cisplatina para sua neutralização.

Otto, *et al* (1988)¹⁰, estudaram o efeito do tiosulfato de sódio sobre a ototoxicidade da cisplatina e observaram uma proteção significativa, avaliada eletrofisiologicamente pelos potenciais auditivos evocados de tronco cerebral, quando os animais foram observados por até 30 dias de tratamento.

Jordan, *et al* (1999)¹¹ sugerem que a fosfomicina pode ser usada para prevenir a ototoxicidade e nefrotoxicidade em humanos, por não terem observado em seus estudos, alteração do potencial antitumoral da cisplatina associada a fosfomicina.

Saito, *et al* (1997)¹² estudaram o efeito do tiosulfato de sódio sobre a cisplatina em cobaias, mostrando que ocorreu otoproteção quando o tiosulfato foi administrado até 1 hora após a cisplatina, o que reforça que existe a interação do tiosulfato com a cisplatina, impedindo assim, o contato da cisplatina com as células ciliadas externas e com as células marginais ou *stria vascularis* ou então, impediria a ligação da cisplatina a macromoléculas intracelulares.

Kaltenbach, *et al* (1997)¹³ compararam o tiosulfato de sódio com o dietilditiocarbamato, fosfomicina e amifostina, quanto à taxa de otoproteção aos danos causados pela cisplatina, encontrando 91% de proteção para o tiosulfato de sódio, 68% de proteção para o dietilditiocarbamato e 45 % para a fosfomicina e amifostina em um estudo usando como modelo experimental hamsters, avaliados eletrofisiologicamente pelo potencial auditivo evocado de tronco cerebral e anatomicamente pela microscopia eletrônica de superfície.

Muldoon, *et al* (2000)¹⁴, demonstraram otoproteção pelo tiosulfato de sódio sem redução na atividade antitumoral da cisplatina, propondo seu uso em humanos.

3.2.2- Dietilditiocarbamato

Berry, *et al* (1990)¹⁵, testaram o dietilditiocarbamato, um agente quelante de metais pesados, em pacientes submetidos à quimioterapia por cisplatina.

Dos pacientes estudados por Berry, *et al* (1990)¹⁵, com relação a otoproteção pela cisplatina, ocorreu uma proteção parcial e dose dependente, bem como todos os pacientes apresentaram os efeitos colaterais do dietilditiocarbamato. Ainda assim, não está claro na literatura se a interação do dietilditiocarbamato pode bloquear seus efeitos antineoplásicos.

3.2.3- Derivados das melanocortinas

Hamers, *et al* (1994)¹⁶, estudaram agentes utilizados até então como neuroprotetores, como as melanocortinas, o hormônio adrenocórticotrófico (ACTH), em particular seu peptídeo análogo ORG 2766, sobre os efeitos ototóxicos da cisplatina e observou em um grupo tratado com 2,0 mg/ Kg/ dia de cisplatina por 8 dias consecutivos que houve uma proteção “eletrofisiológica”, (potencial de ação, somação e microfônico coclear) em aproximadamente 40% dos animais e o estudo anatômico por microscopia óptica não mostrou lesão celular significativa.

Tais estudos foram repetidos por Stengs, *et al* (1998b)¹⁷, encontrando um efeito otoprotetor do ORG 2766 em cobaias que é dose dependente, mas observa-se certa incoerência nos dados que mostram alteração nos animais tratados com cisplatina 1,0 mg/ Kg/ dia por 8 dias e sinais de otoproteção no grupo tratado com 1,5 mg/ Kg/ dia por 8 dias, sendo tais dados considerados inconclusivos. Os mesmos achados foram observados por Cardinaal *et al* (2000)¹⁸.

3.2.4- D-metionina e L-metionina

A D-metionina, um composto sulfurado, com afinidade de ligação à cisplatina, foi testado em ratos por Campbell, *et al* (1996)¹⁹, mostrando através de avaliação eletrofisiológica pelos potenciais evocados auditivos de tronco cerebral e avaliação anatômica por microscopia eletrônica de superfície que na dose única de 16 mg/ Kg de cisplatina, a D-metionina, 30 minutos após e na dose de 300 mg/ Kg protegeu significativamente as células ciliadas externas dos efeitos ototóxicos da cisplatina, bem como reduziu a mortalidade dos ratos e protegeu-os quanto à perda de peso.

A D-Metionina e L-Metionina foram estudadas posteriormente por Reser, *et al* (1999)²⁰, mostrando excelente ação otoprotetora aos danos causados pela

cisplatina, no entanto, estudos *in vitro* e *in vivo* sugerem uma redução significativa da potencia na atividade antineoplásica da cisplatina.

Estudos com o uso da D-metionina tópica, aplicada junto à janela redonda mostraram proteção significativa aos efeitos ototóxicos da cisplatina às células ciliadas cocleares, possibilitando evitar os efeitos sistêmicos destas drogas bem como sua interferência com o potencial antineoplásico da cisplatina.

3.2.5- L-N-acetil cisteína

Feghali, *et al* (2001)²¹, estudaram o efeito otoprotetor da L-N-acetilcisteína aos efeitos tóxicos da cisplatina em neurônios auditivos e células ciliadas sensoriais, demonstrando proteção significativa a ambos. É uma droga do grupo dos tióis, com potencial efeito antioxidante e que promove aumento nos níveis de glutathione intracelular.

3.2.6- Salicilato de sódio

Sha e Schacht (1999)²² estudando a ototoxicidade pela gentamicina, demonstraram que o salicilato de sódio, uma droga sabidamente ototóxica, dose dependente, na dose de 100 mg/Kg subcutânea, atenuou a ototoxicidade da gentamicina em 80% com relação à perda de células ciliadas externas cocleares. Discute que o salicilato protegeria estas células da gentamicina por dois fatores: primeiro, por ser um quelante de ferro e por eliminar radicais livres tóxicos e segundo, pelo salicilato poder ser oxidado pelo quelante de ferro 2,3-dihidroxibenzoato, nos tecidos, sendo que tal substância está implicada no “stress oxidativo” celular.

Li, *et al* (2002)²³, estudaram ratos que receberam 5,0 mg/ Kg/ dia de cisplatina por 03 dias com injeção subcutânea de salicilato de sódio iniciada 02 dias antes da cisplatina e observaram que houve otoproteção verificada pelas medidas eletrofisiológicas dos potenciais auditivos evocados de tronco cerebral, havendo ainda uma redução significativa da perda de células ciliadas externas, em relação ao controle.

Dehne, *et al* (2001)²⁴, estudaram células ciliadas em cultura para verificar se o íon ferro está envolvido com a ototoxicidade pela cisplatina, como existem evidências de que o ferro estaria envolvido na nefrotoxicidade, observaram que ocorreu uma otoproteção parcial quando utilizaram um quelante de ferro (2,2'-dipiridil). Concluíram que a ototoxicidade pela cisplatina é parcialmente mediada por uma via ferro dependente, associada a um aumento na formação de ânions superóxidos no interior das células ciliadas externas da cóclea. (Figura 3).

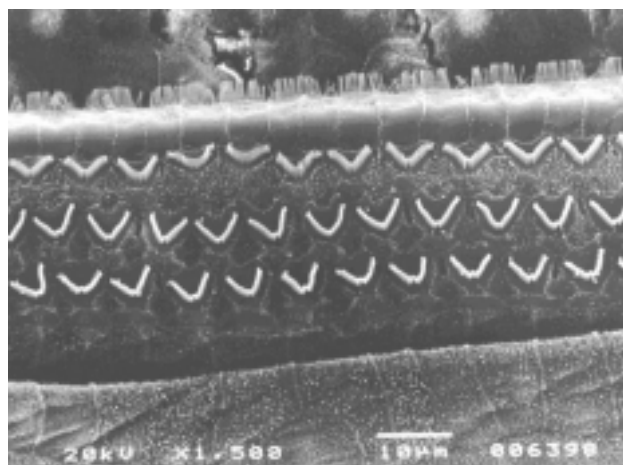


Figura 3: Microscopia eletrônica de superfície da espira basal de cóclea de cobaia tratada com Salicilato de sódio 100 mg/Kg via subcutânea e 90 minutos após, cisplatina 8,0 mg/Kg/dia via intraperitoneal, por 3 dias observamos presença de células ciliadas em todas as espiras da cóclea. (aumento de 1500 X)

3.2.7- Extrato de ginkgo biloba

Fukaya e Kanno (1999)²⁵, estudaram, em ratos, os efeitos da ginkgo biloba como otoprotetor aos danos causados às células ciliadas externas pela cisplatina. Utilizaram a dose de 1,0 mg/ Kg/ dia por 10 dias consecutivos e 90 minutos após as cobaias receberem 100 mg/ Kg /dia de ginkgo biloba. Verificaram através de medidas do potencial de ação e por microscopia eletrônica de superfície que existe um efeito protetor porque a ginkgo biloba reduz a peroxidação lipídica e atua removendo do meio intracelular ânions superóxidos e radicais livres. (Figura 4)

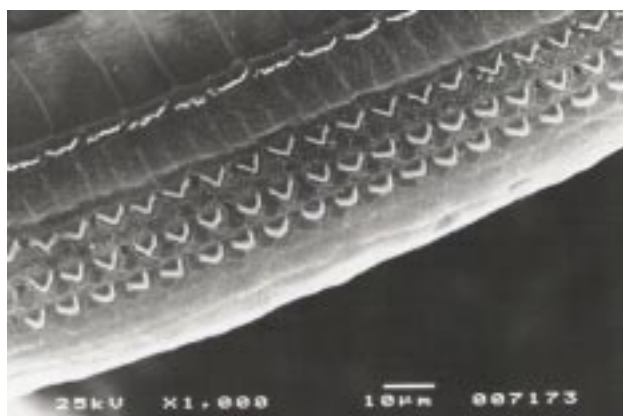


Figura 4: Microscopia eletrônica de superfície, aumento de 1500 vezes, da espira basal da cóclea de cobaia tratada com extrato de ginkgo biloba 100 mg/ dia e cisplatina 8,0 mg/dia 03 dias. Observa-se um padrão normal na espira basal da cóclea com organização ciliar e padrão normal dos cílios das células ciliadas internas.

3.2.8- Outros agentes

O ácido 4-metiltiobenzóico mostrou proteção a ototoxicidade pela cisplatina por atuar no sistema antioxidante coclear

O ácido pantotênico foi testado por Martinez, *et al* (1997)²⁶, não evidenciando correlação entre os achados funcionais da eletrococleografia e as alterações observadas á microscopia eletrônica de superfície, apesar de outros autores já haverem descrito o efeito protetor do ácido pantotênico na ototoxicidade pela cisplatina.

Substâncias como os lazaróides, que são os 21-aminoesteróides, sem ação glicocorticóide tem sido testados com potencial efeito otoprotetor a cisplatina por sua ação como potente inibidor da peroxidação lipídica, sendo um carreador de radicais livres tóxicos á cóclea. Hori, *et al* (1999)²⁷ mostraram que existe um efeito protetor de tais substâncias (Lazaróide U-743899) quanto a ototoxicidade pela cisplatina, não havendo diminuição na atividade antitumoral da cisplatina.

O ácido lipóico e o ebselen, substâncias antioxidantes também foram demonstradas com agentes potencialmente otoprotetores, dose dependentes, aos efeitos ototóxicos pela cisplatina.

Yuhás e Culo (1980)²⁸, descreveram a ação da amifostina (WR - 2721), uma droga do grupo dos tiofosfatos inorgânicos, utilizada como protetor a radiações eletromagnéticas, observaram nefroproteção a cisplatina sem alterar sua função antitumoral.

Foster Nora e Siden (1997)²⁹, sugeriram que a ação da amifostina ocorre nos radicais livres, por ligação nas derivações ativas dos antineoplásicos, no entanto, não se sabe sua influencia na eficácia da quimioterapia, sendo utilizada como protetor aos efeitos da radioterapia.

4- AUTODEFESA CELULAR; HABITUAÇÃO A DROGA OU REGENERAÇÃO CELULAR

Stengs, *et al* (1997)³⁰, trabalhando com o grupo de Smoorenburg, G.F. (Holanda), que posteriormente publicou mais dois trabalhos em 1999 e 2000, abordando o mesmo estudo, mostraram que após injeção de cisplatina 1,5 mg/ Kg/ dia por 8 dias consecutivos, seguindo os animais com medidas eletrofisiológicas do potencial de ação, potencial de somação e potencial microfônico coclear, a partir de 8 semanas observa-

ram que existe uma melhora destes potenciais e ocorre a formação de novas células ciliadas externas e/ou ocorre um reparo das células ciliadas externas lesadas, o qual foi observado por microscopia óptica, apontando para a capacidade de recuperação espontânea das células ciliadas externas lesadas, sugerindo um mecanismo de autodefesa.

Os achados de Smoorenburg et al. (1999)⁶, propõe que outras drogas interessantes de serem testadas como otoprotetoras seriam os neuropeptídeos relacionados ao ACTH, por apresentarem um potencial de otoproteção e estimularem a recuperação das células ciliadas externas que ocorre espontaneamente.

Trabalho recente realizado na Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP mostrou que doses baixas não cócleotóxicas de amicacina 30 mg/Kg/dia levam a um efeito protetor a doses elevadas sabidamente ototóxicas da amicacina (400 mg/ Kg/ dia), sugerindo assim a possibilidade de um mecanismo de autodefesa ou uma adaptação intracoclear as agressões induzidas pelos aminoglicosídeos ototóxicos (Oliveira, et al. 2004)³¹.

Tal fato também foi verificado para a cisplati-

na, sendo que as defesas celulares, principalmente os mecanismos antioxidantes das células ciliadas externas seriam “ativados” pelas doses baixas não lesivas, ficando a célula preparada para receber uma carga maior do agente ototóxico lesivo. No entanto, tal proteção é parcial, pois ocorrem alterações no funcionamento das células ciliadas externas conforme observado pela ausência das emissões otoacústicas. Poderiam tais células ter reduzido sua capacidade de contração rápida como forma de economizar energia, deslocada para as defesas anatômicas das células ou a própria autodefesa diminuiria a capacidade de contração das células ciliadas externas.

Os achados deste estudo mostram evidências de um mecanismo de autodefesa das células ciliadas cocleares contra as alterações anatômicas, estruturais das mesmas contra os danos causados pela cisplatina provavelmente modulado pelos sistemas de defesa antioxidantes da célula, mas com alteração no estado funcional das mesmas o que pode representar uma sobrecarga ainda maior de radicais livres em um ambiente já agredido por agentes ototóxicos. (Figura 5 a, b e c)

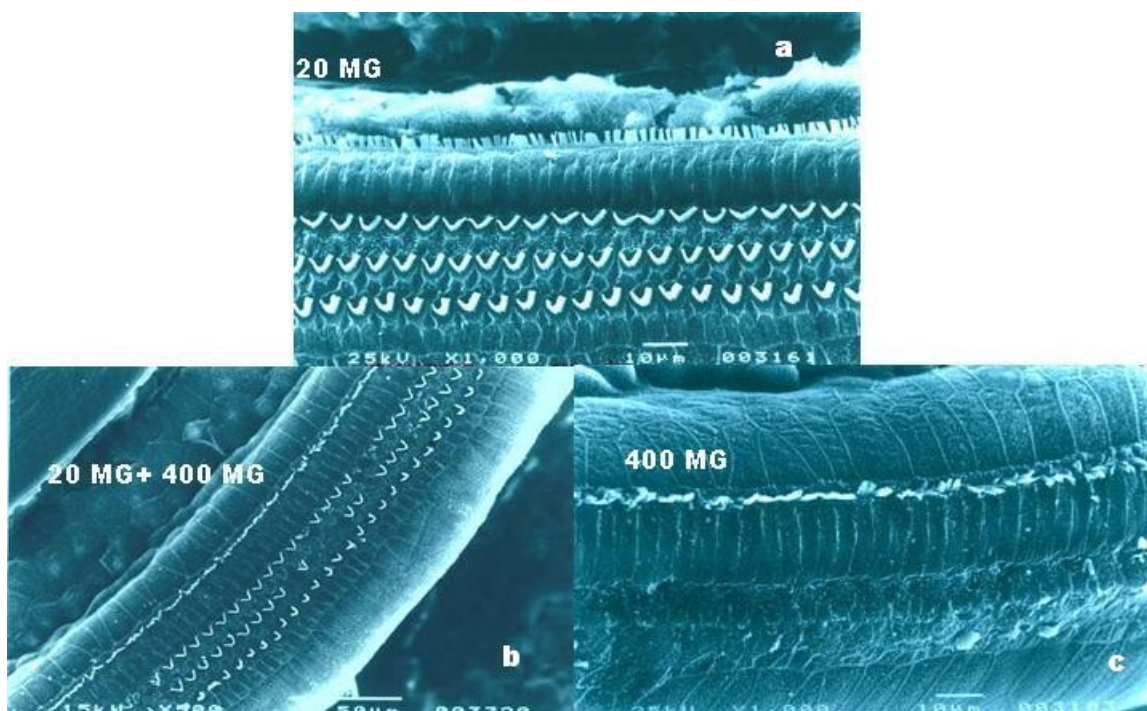


Figura 5 a, b e c: a) Microscopia eletrônica do órgão de Corti de cobaia tratada com amicacina 30 mg/Kg/dia por 30 dias. b) Microscopia eletrônica do órgão de Corti de cobaia tratada com amicacina 400 mg/Kg/dia, durante 8 dias. c) Microscopia eletrônica do órgão de Corti de cobaia tratada com amicacina 30 mg/Kg/dia por 30 dias e após 400 mg/Kg/dia, durante 8 dias.

AGRADECIMENTOS

Laboratório de Técnica Cirúrgica e Cirurgia Experimental do Departamento de Cirurgia e Anatomia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP.

Laboratório de Microscopia Eletrônica do Departamento de Biologia Celular e Molecular e Bioagentes Patogênicos da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP.

Hyppolito MA, Oliveira JAA. Ototoxicity, otoprotection and self defense of the coclear outer hair cells. *Medicina (Ribeirão Preto)* 2005; 38 (3/4): 279-289.

Abstract: Ototoxicity are affection caused by side effects of medicaments with irreversible auditory and bilateral neurossensorial hearing loss to frequencies 250 to 8000 Hz, with or without vertigo or dizziness.

Most of the studies on this area are referred to aminoglicosides and antineoplastic drugs like cisplatin, used for cancer treatment in children and adults.

Reports recognize some drugs that are associated with this drugs to obtain an otoprotector effect.

The ototoxicity mechanisms of aminoglicosides and cisplatin are related to injury of conduct the hair cell oxidation mechanism, with particular injury to outer hair cells. Other possibility are a self-defense mechanism of outer hair cells reported by some studies.

Keywords: Ototoxicity, Aminoglicosides. Cisplatin. Otology. Drug Toxicity.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - Matz GJ. Aminoglycosyde cochlear ototoxicity. *Otolaryngol Clin North Am* 1993; 26: 705-12.
- 2 - Harder HC, Rosenberg B. Inhibitory effects of anti-tumor platinum compounds on DNA, RNA and protein syntheses in mammalian cells in vitro. *Int J Cancer* 1970; 6: 207-16.
- 3 - Barron SE, Daigneault EA. Effect of cisplatin on hair cell morphology and lateral wall Na-K-ATPase activity. *Hear Res* 1987; 26: 131-7.
- 4 - McAlpine D, Johnstone BM. The ototoxic mechanism of cisplatin. *Hear Res* 1990; 47:191 - 203.
- 5 - Ravi R, Somani SM, Rybak LP. Mechanism of cisplatin ototoxicity: antioxidant system. *Pharmacol Toxicol* 1995; 76: 386 - 94.
- 6 - Smoorenburg GF, De Groot JCMJ, Hamers FPT, Klis SFL. Protection and spontaneous recovery from cisplatin-induced hearing loss. *Ann N Y Acad Sci* 1999; 884:192-210.
- 7 - Huang T, Cheng AG, Stupak H, Liu W, Kim A, Staecker H, Lefebvre PP, Malgrange B, Kopke RK, Moonen G, Van De Water TR. Oxidative stress-induced apoptosis of cochlear sensory cells: otoprotective strategies. *Int J Dev Neurosci* 2000;18:259-70.
- 8 - Schweitzer VG, Dolan DF, Abrams GE, Davidson T, Snyder, R. Amelioration of cisplatin - induced ototoxicity by fosfomycin. *Laryngoscope* 1986; 96: 948-58.
- 9 - Elferink F, van der Vijgh WJ, Klein I, Pinedo HM. Interaction of cisplatin and carboplatin with sodium thiosulfate: reaction rates and protein binding. *Clin Chem* 1986; 32:641-5.
- 10 - Otto WC, Brown RD, Gage White L, Kupetz S, Anniko M, Penny JE, Henley CM. Effects of cisplatin and thiosulfate upon auditory brainstem responses of guinea pigs. *Hear Res* 1988; 35: 79-85.
- 11 - Jordan JA, Schwade ND, Truelson JM. Fosfomycin does not inhibit the tumoricidal efficacy of cisplatin. *Laryngoscope* 1999; 109:1259-62.
- 12 - Saito T, Zhang ZJ, Manabe Y, Ohtsubo T, Saito H. The effect of sodium thiosulfate on ototoxicity and pharmacokinetics after cisplatin treatment in guinea pigs. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 1997; 254:281-6.
- 13 - Kaltenbach JA, Church MW, Blakley BW, Mc Caslin DL, Burgio DL. A comparison of five agents in protecting the cochlea against the ototoxic effects of cisplatin in the hamster. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1997; 117:493-500.
- 14 - Muldoon LL, Pagel MA, Kroll RA, Brummett RE, Doolittle ND, Zuhowski EG, Egorin MJ, Neuwelt EA. Delayed administration of sodium thiosulfate in animal models reduces platinum ototoxicity without reduction of antitumor activity. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 309-15.
- 15 - Berry JM, Jacobs C, Sikic B, Halsey J, Borch RF. Modification of cisplatin toxicity with diethyldithiocarbamate. *J Clin Oncol* 1990; 8:1585-90.

- 16 - Hamers FP, Klis SF, Gispen WH, Smoorenburg GF. Application of a neuroprotective ACTH (4-9) analog to affect cisplatin ototoxicity: an electrocochleographic study in guinea pigs. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 1994; 251:23-9.
- 17 - Stengs CHM, Klis SFL, Huizing EH, Smoorenburg GF. Protective effects of a neurotrophic ACTH (4-9) analog on cisplatin ototoxicity in relation to the cisplatin dose: an electrocochleographic study in albino guinea pigs. *Hear Res* 1988; 124: 108-17.
- 18 - Cardinaal RM, Groot JCMJ, Huizing EH, Veldman JE, Smoorenburg GF. Histological effects of co-administration of an ACTH(4-9) analog, ORG 2766, on cisplatin ototoxicity in the albino guinea pig. *Hear Res* 2000;144: 157-67.
- 19 - Campbell KCM, Rybak LP, Meech RP, Hughes L. D-Methionine provides excellent protection from cisplatin ototoxicity in the rat. *Hear Res* 1996; 102:90-8.
- 20 - Reser D, Rho M, Dewan D, Herbst L, Li G, Stupak H, Zur K, Romaine J, Frenz D, Goldbloom L, Kopke R, Arezzo J, Van De Water T. L.- and D- methionine provide equivalent long term protection against CDDP- induced ototoxicity in vivo, with partial in vitro and in vivo retention of antineoplastic activity. *Neurotoxicology* 1999; 20:731-48.
- 21 - Feghali JG, Liu WBS, Van De Water TR. L-N-Acetyl-cysteine protection against cisplatin-induced auditory neuronal and hair cell toxicity. *Laryngoscope* 2001; 111:1147- 55.
- 22 - Sha SH, Schacht J. Salicylate attenuates gentamicin induced ototoxicity. *Lab Invest* 1999; 79:807-13.
- 23 - Li G, Sha SH, Zotova E, Arezzo J, Van De Water T, Schacht J. Salicylate Protects hearing and kidney function from cisplatin toxicity without compromising its oncolytic action. *Lab Invest* 2002; 82:585-96.
- 24 - Dehne N, Lautermann J, Petrat F, Rauen U, De Groot H. Cisplatin ototoxicity: involvement of iron and enhanced formation of superoxide anion radicals. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2001;174:27-34.
- 25 - Fukaya H, Kanno H. Experimental studies of the protective effect of ginkgo biloba extract (GBE) on cisplatin-induced toxicity in rats. *Nippon Jibiinkoka Gakkai Kaiho* 1999; 102:907-17.
- 26 - Martinez Martinez MJ, Fernandez Cervilla F, Crepo VP, Giges M, Campos A. Morphological and functional correlations of the protective action of pantothenic acid in cisplatin ototoxicity (I). *Acta Otorrinolaringol Esp* 1997; 48: 261-4.
- 27 - Hori H, Kanno H. An experimental study of the protective effect of lazaroid (U-74389G) on cisplatin induced toxicity. *Nippon Jibiinkoka Gakkai Kaiho* 1999; 102:8-18.
- 28 - Yuhás JM, Culo F. Selective inhibition of the nephrotoxicity cis-dichlorodiammineplatinum (II) by WR-2721. without altering its anti-tumor properties. *Cancer Treat Rep* 1980; 64:57-64.
- 29 - Foster Nora JA, Siden R. Amifostine for protection from antineoplastic drug toxicity. *Am J Health Syst Pharm* 1997; 54:787-800.
- 30 - Stengs CH, Klis SF, Huizing EH, Smoorenburg GF. Cisplatin ototoxicity. electrophysiological evidence of spontaneous recovery in the albino guinea pig. *Hear Res* 1997; 111: 103 - 13.
- 31 - Oliveira JAA, Canedo DM, Rossato M, Andrade MH. Self-protection against aminoglycoside ototoxicity in guinea pigs. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2004; 131:271-9.

BIBLIOGRAFIAS RECOMENDADAS

- Allen GC, Tiu C, Koike K, Ritchey AK, Kurs-Lasky M, Wax MK. Transient-evoked otoacoustic emissions in children after cisplatin chemotherapy. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1998;118: 584-8.
- Blakley BW, Cohen JI, Doolittle ND, Muldoon LL, Campbell KC, Dickey DT, Neuwelt EA. Strategies for prevention of toxicity caused by platinum - based chemotherapy: review and summary of the annual meeting of the Blood-brain barrier disruption program, Gleneden Beach, Oregon, March 10, 2001. *Laryngoscope* 2002; 112: 1997-2001.
- Canedo DJM. Auto defesa da cóclea contra agentes nocivos [Dissertação de Mestrado], Ribeirão Preto: Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto-USP; 1999.
- Cardinaal RM, Groot JCMJ, Huizing EH, Veldman JE, Smoorenburg GF. Cisplatin-induced ototoxicity: morphological evidence of spontaneous outer hair cell recovery in albino guinea pigs? *Hear Res* 2000; 144:147-56.
- Ciges M, Fernandez FC, Crespo PV, Campos A. Pantothenic acid and coenzyme A in experimental cisplatin induced ototoxia. *Acta Otolaryngol* 1996; 116: 263-8.
- De Laurents A, De Capua B, Barbieri MT, Bellussi L, Passali D. ABR evaluation of ototoxicity in cancer patients receiving cisplatin or carboplatin. *Scand Audiol* 1999; 28:139-43.
- Evans P, Halliwell B. Free radicals and hearing. Cause, consequence, and criteria. *Ann N Y Acad Sci* 1999; 884:19-40.
- Fausti SA, Frey RH, Henry JA, Olson DJ, Schaffer HI. Early detection of ototoxicity using high-frequency, tone burst evoked auditory brainstem responses. *J Am Acad Audiol* 1992; 3: 37-40.
- Gao WQ. Role of neurotrophins and lectins in prevention of ototoxicity. *Ann N Y Acad Sci* 1999; 884:312-27.
- Heijmen PS, Klis SF, De Groot JC, Smoorenburg GF. Cisplatin ototoxicity and the possibly protective effect of alpha-melanocyte stimulating hormone. *Hear Res* 1999;128:27-39.
- Kamimura T, Whitworth CA, Rybak LP. Effect of 4-methylthiobenzoic acid on cisplatin-induced ototoxicity in the rat. *Hear Res* 1999; 131:117-27.
- Kemp DT, Siobhan R, Bray P. A guide to effective use of otoacoustic emissions. *Ear Hear* 1990; 11:93-105.
- Kohn SM, Fradis M, Pratt H, Zidan J, Podoshin L, Robinson E, Nir I. Cisplatin ototoxicity in guinea pigs with special reference to toxic effects in the stria vascularis. *Laryngoscope* 1988; 98:865-71.
- Laurell G, Engström B, Bagger-Sjöback D. Ototoxicity of cisplatin. *Int J Androl* 1987; 10: 359-62.
- Laurell G, Bagger-Sjöback D. Dependent inner ear changes after I.V. administration of cisplatin. *J Otolaryngol* 1991; 20:158-67.
- Lautermann J, Song B, McLaren J, Schacht J. Diet is a risk factor in cisplatin ototoxicity. *Hear Res* 1995; 88:47-53.
- Lopes Filho O, Carlos R, Redondo MC. Produtos de distorção das emissões otoacústicas. *Rev Bras Otorrinolaringol* 1995; 61: 485-94.
- Lopez-Gonzalez MA, Guerrero JM, Rojas F, Delgado F. Ototoxicity caused by cisplatin is ameliorated by melatonin and other antioxidants. *J Pineal Res* 2000; 28:73-80.

- Nagy JL, Adelstein DJ, Newman CW, Rybicki LA, Rice TW, Lavertu P. Cisplatin ototoxicity: the importance of baseline audiometry. *Am J Clin Oncol* 1999; 22: 305-8.
- Neubert D. Significance of pharmacokinetic variables in reproductive and developmental toxicity. *Xenobiotica* 1998; 18(Supl 1): 45-58.
- Oliveira JAA, Canedo DM, Rossato M. Autodefesa contra a ototoxicidade de antibióticos aminoglicosídeos. *Rev Bras Otorrinolaringol* 2002; 68: 7-13.
- Oliveira JAA. Audiovestibular toxicity of drugs. Florida: Boca Raton CRC Press; 1989. 2 vol.
- Powis GD, Hacker MP. The toxicity of anticancer drugs. New York: Pergamon Press; 1991. p. 82-105.
- Ravi R, Rybak LP, Somani SM. Relationship of pharmacodynamic effects of cisplatin to the glutathione levels in the cochlea, inferior colliculus and kidney. *Pharmacologist* 1991; 33: 402.
- Rosenberg B. Clinical aspects of platinum anticancer drugs. In: Rosenberg B. Metal ions in biological systems. New York: Marcel Dekker, Inc, 1980. vol 12: p. 127-96.
- Rosenberg B. Fundamental studies with cisplatin. *Cancer* 1985; 55:2303-46.
- Rybak LP, Somani S. Ototoxicity. Amelioration by protective agents. *Ann N Y Acad Sci* 1999; 884:143-51.
- Rybak LP, Whitworth MA, Somani S. Application of antioxidants and other agents to prevent cisplatin ototoxicity. *Laryngoscope* 1999; 109: 1740-4.
- Stengs CH, Klis SF, Huizing EH, Smoorenburg GF. Cisplatin ototoxicity. An electrophysiological dose-effect study in albino guinea pigs. *Hear Res* 1998;124: 99-107.
- Simpson TH, Schwan SA, Rintelmann WF. Audiometric test criteria in the detection of cisplatin ototoxicity. *J Am Acad Audiol* 1992; 3:176-85.
- Song BB, Schacht J. Variable efficacy of radical scavengers and iron chelators to attenuate gentamicin ototoxicity in guinea pig in vivo. *Hear Res* 1996; 94:87-93.
- Yung MW, Dorman EB. Electrocochleography during intravenous infusion of cisplatin. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1986; 112:823-6.
- Zenner HP, Keiner S, Zimmermann U. Specific glutathione-SH inhibition of toxic effects of metabolized gentamicin on isolated guinea pig hair cells. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 1994; 251:84-90.